

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590410

研究課題名（和文） 肺癌における IGFBP-2 の役割とバイオマーカーとしての評価

研究課題名（英文）

Roles of IGFBP-2 and its evaluation as a biomarker in lung cancer

研究代表者 右田 敏郎 (MIGITA TOSHIRO)

東京大学医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：20462236

研究成果の概要（和文）：

分泌型 IGFBP-2 は癌細胞の増殖を制御することが知られているが、細胞内の機能については不明である。肺癌細胞の細胞質 IGFBP-2 はアポトーシス実行因子である caspase-3 の発現を抑制する働きがあり、抗癌剤による細胞死が起きにくくなっていた。一方、抗腫瘍効果のある PI3K 阻害剤は、細胞内および分泌型 IGFBP-2 の発現を著明に抑制した。IGFBP-2 は肺癌の腫瘍マーカーとして有用であった。

研究成果の概要（英文）：

Secreted IGFBP-2 protein is well known as a regulator of IGF signaling pathway, and regulates tumor growth and survival. The increase in cytoplasmic IGFBP-2 expression is also observed in most cancer cells; however, the role of intracellular IGFBP-2 remains elusive. We found that IGFBP-2 overexpression reduced procaspase-3 expression in lung cancer cell lines and blocked the camptothecin-mediated apoptosis. LY294002, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), suppressed lung cancer growth concomitantly with the reduction in IGFBP-2 levels. IGFBP-2 may offer a novel therapeutic target and serve as an anti-apoptotic biomarker for lung cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：IGFBP-2, 肺癌, バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

肺癌は日本人の癌の死亡原因のなかでも多くを占め、その死亡率はいまだ増加

傾向にある。しかし、肺癌に対する効果的な治療薬は未だ少なく、その効果も限定的である。そのため、肺癌の早期発見や

治療効果を判定するバイオマーカーの探索は、最重要課題の一つとなっている。増殖因子の一つである insulin-like growth factor (IGF) は IGF receptor に結合し、MAPK や PI3K などのシグナル伝達を介して癌化や細胞増殖を促進する。血液中の IGF は通常 IGF-binding proteins (IGFBPs) と結合しており、IGF/IGFR のシグナル伝達が正または負に制御されている。IGFBPs の IGFBP-1 から-6 のサブタイプのうち、IGFBP-2 が脳腫瘍、前立腺癌、大腸癌、卵巣癌、副腎皮質癌、乳癌、白血病などの多くの癌で過剰発現していることが示されている。in vitro 実験では、IGFBP-2 が癌化や癌の進展を促進するという報告もあるが、逆に抑制的に働くとする報告もあり、その詳しいメカニズムについては不明な点が多い。最近、PTEN 欠失頻度の高い脳腫瘍や前立腺癌において、IGFBP-2 が PI3K/PTEN/Akt 経路によって制御されていることが紹介され、注目された (Mehrian-Shai R et al, PNAS 2007;104:5563-5568)。

PI3K は多くの腫瘍で活性化されており、その阻害剤は抗腫瘍効果をもつ。肺癌ではもともと有用な腫瘍マーカーが乏しいが、IGFBP-2 は分泌タンパクであることから PI3K 阻害剤に対する治療効果判定のバイオマーカーになりうる可能性があると考えた。また、分泌型 IGFBP-2 の機能についてはよく研究されていたが、我々は IGFBP-2 が肺癌細胞内に高発現していることを認めたため、細胞内でも何らかの機能を果たしているのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究課題は、細胞内 IGFBP-2 の癌細胞での生存に与える影響と治療標的としての可能性、並びに肺癌における新規バイオマーカーとしての臨床応用の可能性を検証した。

## 3. 研究の方法

肺腺癌と正常組織の臨床サンプルを用いて、IGFBP-2 の発現を real time PCR、免疫組織化学染色、ウエスタンブロット法にて測定した。また、肺腺癌細胞株でも同様に細胞内 IGFBP-2 の発現を測定した。分泌 IGFBP-2 の発現は肺癌患者血清と肺腺癌細胞株の培地を用いて、IGFBP-2 濃度を ELISA 法にて測定した。

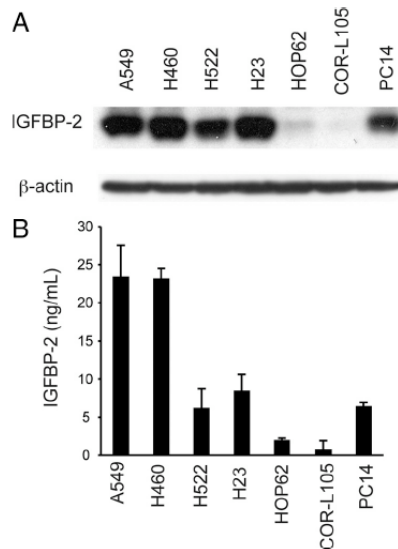
IGFBP-2 の機能解析として、IGFBP-2 ベクターを肺癌細胞に過剰発現させ、安定発現株を得た。siRNA を用いて、IGFBP-2 をノックダウンし、アポトーシスの誘導を調べるため、

Caspase-3、-9 の発現と活性やヘキスト染色などでアポトーシスの程度を測定した。抗がん剤との併用によるアポトーシス促進効果も調べた。

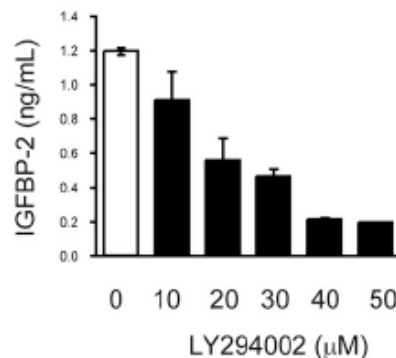
肺腺癌 169 症例のホルマリン固定パラフィン切片を用いて、IGFBP-2 と Caspase-3 の発現を免疫組織化学染色法にて調べた。IGFBP-2 と Caspase-3 の相関関係を解析した。

## 4. 研究成果

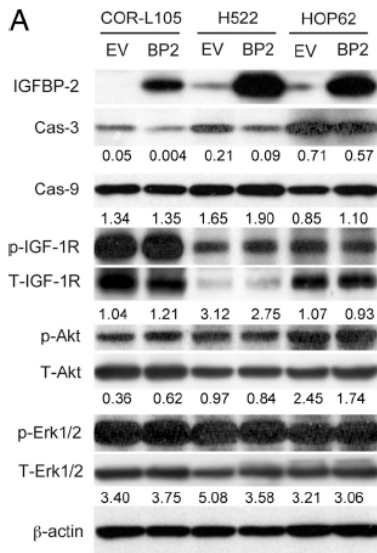
- (1) ウエスタンブロットと ELISA 法の結果から、肺癌細胞株では IGFBP-2 が培地中に分泌されるだけでなく、細胞内にも強く発現していることがわかった。



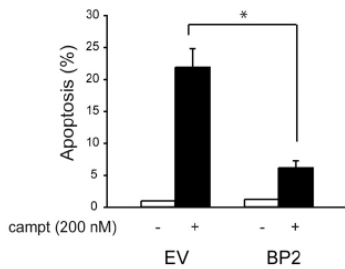
- (2) 肺癌細胞株における細胞内 IGFBP-2 の発現は PI3K 阻害剤により、濃度依存的に発現が抑制された。



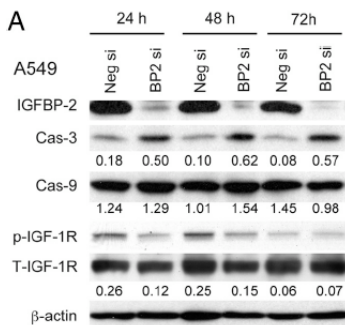
- (3) 肺癌細胞株における細胞内 IGFBP-2 の過剰発現は IGF シグナル非依存的に Procaspase-3 の発現を抑制した。



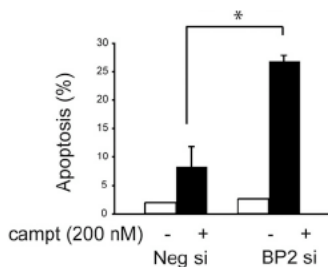
(4) 細胞内 IGFBP-2 の過剰発現はカンプトテシンによるアポトーシス誘導を抑制した。



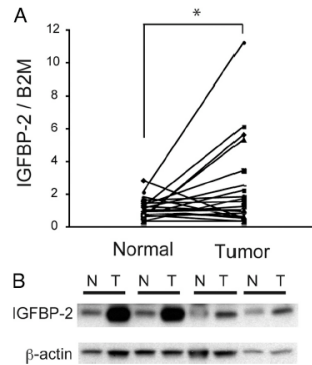
(5) IGFBP-2 のノックダウンは IGF シグナル非依存的に Procaspase-3 の発現を増加させた。



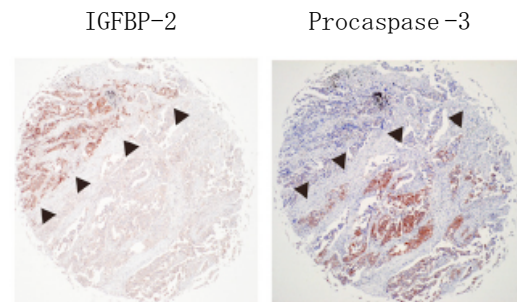
(6) IGFBP-2 のノックダウンはカンプトテシンによるアポトーシス誘導を促進した。



(7) 肺癌の臨床サンプルでは非癌部に比べて癌部での IGFBP-2 の発現は有意に高かった。



(8) 肺癌組織では細胞内の IGFBP-2 と Procaspase-3 の発現量、発現分布は有意に逆相関を示した。



(9) 肺癌患者では健常者に比べて、血清 IGFBP-2 レベルが高かった。特に肺小細胞癌の患者では顕著に高い傾向がみられたが、予後との相関は不明であった。

(10) まとめ

本研究により、IGFBP-2 は肺癌でも高発現していることを認めた。肺癌の細胞内、細胞外 IGFBP-2 レベルは PI3K 阻害剤により著明に抑制された。細胞内 IGFBP-2 は IGF シグナル非依存的に抗アポトーシス作用を発揮し、肺癌の生存、進展に関与していると考えられた。血清 IGFBP-2 レベルは肺癌患者で高い傾向を示したが、予後との相関については不明であった。本研究により血清 IGFBP-2 レベルは肺癌の治療、特に PI3K 阻害剤による治療効果判定に有用であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件) (査読あり)

Migita T, Narita T, Asaka R, Miyagi E, Nagano H, Nomura K, Matsuura M, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Seimiya H, Ishikawa Y: Role of insulin-like growth factor binding proteins 2 in lung adenocarcinoma: IGF independent anti-apoptotic effect via caspase-3.

Am J Pathol 2010, 176:1756-1766.

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

右田 敏郎 (MIGITA TOSHIRO)

東京大学医学部附属病院・特任研究員

研究者番号: 20462236

(2) 研究分担者

石川 雄一 (ISHIKAWA YUICHI)

公益財団法人がん研究会がん研究所・

病理部・部長

研究者番号: 80222975

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: